Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 4, Sep.-Dec. 2021, p. 583-597

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، مهر – آبان ۱۴۰۰، ص. ۵۹۷-۵۸۳

مقاله پژوهشی

تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و فیلترکیک بر رشد و غلظت عناصر غذایی در گیاه اسفناج در برهم‌کنش با علف‌کش

کوثر اسدزاده[۱]- حبیب ا.. نادیان[۲]- عبدالرضا سیاهپوش[۳]- وحید کشاورز توحید[۴]*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۵

چکیده

گیاه اسفناج گیاهی حساس به علف‌های هرز بوده و علف‌کش اختصاصی برای آن وجود نداشته و استفاده از علف‌کش‌های پیشنهادی مانند متری-بیوزین باعث اختلالات متابولیکی در اسفناج شده که نتیجه آن کاهش مؤلفه‌های رشدی و تغذیه‌ای در این گیاه می‌باشد. در این پژوهش تأثیر باکتری-های ریزوسفری محرک رشد گیاه از گروه سودوموناس (جدایه‌های RUM14 و CHA0) و فیلترکیک به عنوان محصول جانبی کارخانه شکر (F) و ماده‌ای غنی بر غلظت عناصر غذایی و وزن خشک در گیاه اسفناج بررسی شد. همچنین تأثیر باکتری‌های ذکر شده و فیلتر کیک بر کاهش اثرات منفی تنش ناشی از علف‌کش متری‌بیوزین مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و فیلترکیک هر کدام به‌تنهایی و یا با استفاده همزمان باعث افزایش غلظت عناصر پرمصرف (فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و کم‌مصرف (مس، روی و آهن) و همچنین افزایش وزن خشک در گیاه اسفناج می‌گردد. از نظر آماری بیشترین افزایش غلظت عناصر و وزن خشک در تیمار استفاده همزمان جدایه RUM14 و فیلترکیک (RUM14+F) مشاهده گردید. همچنین مشخص گردید استفاده از علف‌کش متری‌بیوزین باعث کاهش غلظت عناصر و وزن خشک می‌گردد و از نظر آماری با افزایش مصرف علف‌کش این تغییرات افزایش می‌یابد. بررسی‌های آماری نشان داد که استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و فیلتر کیک به تنهایی و یا با هم، اثر تنش ناشی از استفاده علف‌کش (کاهش وزن خشک و همچنین کاهش غلظت عناصر) را به میزان زیادی در گیاه اسفناج کاهش می‌دهد و از نظر اماری تیمار RUM14+F موثرترین تیمار بود. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که جدایه‌های باکتری سودوموناس و فیلترکیک در افزایش رشد گیاه اسفناج، افزایش عناصر پر مصرف و کم مصرف در گیاه اسفناج و همچنین در کاهش تنش ناشی از استفاده از علف‌کش مؤثر می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: سودوموناس، عناصر پر مصرف، عناصر کم مصرف، متری‌بیوزین

مقدمه

در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در راستای بهبود و حفظ باروری خاک، بهبود کیفیت محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌های زیست‌محیطی انجام شده است. کاهش این مخاطرات زیست‌محیطی، همگام با افزایش عملکرد گیاهان نیازمند به‌کارگیری تکنیک‌های نوین بهره‌برداری است (۲۳). در این راستا، کاهش سموم کشاورزی از جمله علف‌کش‌ها و استفاده بیشتر از کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی که اساس و اهداف کشاورزی پایدار و ارگانیک جهت دست‌یابی به زنجیره غذایی سالم را تشکیل می‌دهد مورد توجه فراوان قرار گرفته است (۳). کودهای زیستی شامل جمعیت متراکم یک یا چند موجود زنده مفید خاکزی و یا به‌صورت فرآورده‌ی متابولیک این موجودات می‌باشند که قادر به افزایش حاصلخیزی خاک، افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول می‌گردند (۳۶). از جمله این ریزجانداران می‌توان به دستجات مختلف باکتری‌ها از جمله

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۳- استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۴- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
(*- نویسنده مسئول: Email: keshavarz@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/JSW.2021.71455.1069

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه[1]، قارچ‌های آربسکولار مایکوریزا و دیگر قارچ‌های مفید خاک اشاره کرد. این ریزجانداران به‌روش‌های مختلف مانند تثبیت نیتروژن، انحلال ترکیبات فسفری نامحلول، افزایش قابلیت جذب عناصری نظیر آهن، روی و مس به رشد گیاهان کمک می‌نمایند (۲۱). در بین باکتری‌های محرک رشد گیاه، باکتری‌های جنس سودوموناس به‌دلیل توزیع گسترده در خاک، توانایی کلونیزه کردن ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید طیف متنوعی از متابولیت‌ها مانند سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌های گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. از میان گونه‌های مختلف جنس سودوموناس گونه‌های متعلق به گروه *Pseudomonas putida* و *P. fluorescens* نقش بسیار مهمی در افزایش رشد و جذب عناصر غذایی از جمله فسفر دارند (۳۶ و ۵). از دیگر خصوصیات برخی جدایه‌های باکتری‌های جنس سودوموناس توانایی تجزیه‌ی آلاینده‌های آلی از جمله مشتقات نفتی مانند علف‌کش‌ها می‌باشد (۶، ۴۶، ۲۴ و ۲۶).

فیلترکیک از فرآورده‌های جانبی کارخانه تولید شکر می‌باشد که در فرآیند رسوب‌گذاری و تصفیه‌ی شربت به‌دست می‌آید و دارای عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از جمله فسفر، نیتروژن، آهن، منگنز، روی، مس، منیزیم و کلسیم می‌باشد. افزودن آن‌ها به خاک می‌تواند سبب بهبود حاصلخیزی و دیگر ویژگی‌های خاک شود (۱). از این ماده برای بهبود ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاک استفاده می‌شود. این ماده به‌دو صورت در بخش کشاورزی استفاده می‌گردد: به‌صورت مستقیم (کود تازه) و یا غیر مستقیم (کمپوست) (۱۶).

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) یکی از مهم‌ترین سبزی‌های برگی است و در زمره‌ی گیاهان دارویی و خوراکی محسوب می‌گردد. اسفناج گیاهی یکساله، دوپایه و متعلق به خانواده‌ی چغندرسانان (Chenopodiacea) بوده (۴۴) و غنی از ویتامین‌ها، ترکیبات آنتی اکسیدان و عناصر ضروری از جمله آهن و سلنیوم می‌باشد (۹). با توجه به اینکه اسفناج مربوط به مناطق معتدل و سرد می‌باشد، در فصول پاییز و زمستان در خوزستان کشت می‌شود (۴۳). گیاه اسفناج نسبت به علف‌های هرز حساس بوده و در رقابت با علف‌های هرز دچار خسارت‌های کیفی و کمی شدید می‌گردد. اما علف‌کش‌هایی که برای کنترل علف‌های هرز اسفناج استفاده می‌شود بسیار محدود و غیر اختصاصی می‌باشند و مهم‌ترین این علف‌کش‌ها می‌توان به پندی‌متالین، تریفورالین، ارادیکان و متری‌بیوزین اشاره کرد (۱۴). همانطور که ذکر شد علف‌کش‌های مورداستفاده در اسفناج صد در صد انتخابی نیستند و باعث اختلالات متابولیتی که نتیجه آن کوتاه قدی، کلروزه و نکروزه شدن و یا حتی از بین رفتن گیاهچه اسفناج شوند (۳۲).

ایران از جمله کشورهایی است که متاسفانه مصرف سموم آن چه به جهت مبارزه با امراض و آفات و چه به جهت مبارزه با علف‌های هرز بسیار زیاد است. اگرچه تأثیر ریزجانداران مفید خاک بر مؤلفه‌های رشدی و تغذیه‌ای گیاه (۲۷، ۳۳ و ۳۵) و نیز کاهش تنش‌های غیر زنده بر گیاه مانند شوری (۳۸، ۳۹ و ۴۸) و خشکی (۳۷، ۱۷ و ۱۸) بسیار بررسی شده است ولی تأثیر احتمالی این ریز جانداران در کاهش اثرات سوء ناشی از مصرف علف‌کش‌ها در گیاهان خصوصا همراه با کودهای آلی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به حساسیت گیاه اسفناج به علف‌کش و کمی تحقیقات در خصوص استفاده از ریزجانداران مفید خاک و کودهای آلی در کاهش خسارات ناشی از علف‌کش‌ها بر اسفناج، پژوهشی با هدف بررسی تأثیر باکتری سودوموناس به‌عنوان باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و فیلترکیک به‌عنوان کود آلی بر مؤلفه‌های رشدی و تغذیه‌ای گیاه اسفناج در برهم‌کنش با مصرف علف‌کش متری‌بیوزین انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تیمارها و شرایط انجام آزمایش

در این تحقیق به‌منظور بررسی اثرات تنش ناشی از علف‌کش متری‌بیوزین (پیشنهاد شده برای مزارع اسفناج) بر رشد گیاه اسفناج و جذب عناصر، وزن خشک، میزان عناصر پر مصرف (پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر) و کم‌مصرف (مس، روی و آهن) در گیاه اسفناج تیمار شده با علف‌کش متری‌بیوزین در ۳ سطح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ اندازه‌گیری گردید (H0, H1, H2). در ادامه تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی در ۳ تیمار عدم تلقیح باکتری (B0)، استفاده از جدایه‌ی *P. protogenes* CHA0 (CHA0) و استفاده از جدایه‌ی *P. alloputida* RUM14 (RUM14) و فیلترکیک در ۲ سطح، عدم کاربرد (F0) و کاربرد ۳ درصد وزنی (F3%) (معادل ۳۹ تن بر هکتار) بر رشد و میزان عناصر غذایی و کاهش تنش ناشی از علف‌کش متری‌بیوزین بررسی شد. به‌طور کلی آزمایشات در ۱۸ تیمار در ۳ تکرار در ۵۴ گلدان انجام شد.

این پژوهش در گلخانه‌ی گروه خاک‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان اجرا گردید. متوسط درجه حرارت روزانه و شبانه گلخانه در زمستان به‌ترتیب ۱۹ و ۸ درجه سلسیوس بود. بذور اسفناج در گلدان‌های حاوی ۴۰ درصد خاک مزرعه و ۶۰ درصد ماسه کشت شدند (با توجه به میزان بالای رس و لای خاک و جلوگیری از جدا شدن خاک گلدان از بدنه داخلی گلدان با کاهش رطوبت خاک در طول آزمایش، به نسبت فوق، خاک توسط ماسه سبک گردید). لازم به ذکر است که برای پایین آوردن شوری ماسه، آن را کاملا با آب مقطر چندین بار شسته و سپس در معرض هوا

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

خشک گردید. برای حذف پاتوژن‌ها، قارچها و باکتری‌های بومی خاک و ایجاد محیط بدون رقابت جهت وضوح اثرات باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد، خاک و ماسه را با دستگاه اتوکلاو، در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت ۱ ساعت استریل شدند. گلدان‌های این آزمایش با قطر دهانه‌ی ۱۶/۵ سانتی‌متری مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به حجم گلدان‌ها درون هر گلدان ۲۹۷۰ گرم خاک فوق‌الذکر ریخته شد. برای کشت اسفناج از رقم ورامین استفاده گردید. بذور این گیاه به‌صورت مستقیم و در تمامی ۵۴ گلدان به تعداد یکسان بذر (۱۰ عدد) به عمق یک سانتی‌متر که توسط میله‌ی شیشه‌ای ایجاد گردید، کشت شد. قسمت بالای گلدان‌ها جهت آبیاری تا عمق ۲ سانتی‌متری خالی نگه داشته شد. در هر دور آبیاری رطوبت گلدان‌ها در تمامی مراحل آن‌ها در حد ظرفیت زراعی تعیین گردید. در این آزمایش گلدان‌های شاهد بدون اضافه کردن تیمارها، و بقیه‌ی گلدان‌ها با تیمارهای فیلترکیک، باکتری ریزوسفری محرک رشد و علف‌کش در سطوح تعیین شده به خاک گلدان‌ها اضافه شد.

مایه‌زنی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد

سوسپانسیون باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد به‌منظور بررسی تاثیر آن در میزان رشد و جذب عناصر در گیاه اسفناج در شرایط عادی و تحت تنش علف‌کش مورد استفاده قرار گرفت. در این تیمارها از ۲ جدایه باکتری سودوموناس *P. protogenes* CHA0 و *P. alloputida* RUM14 تهیه شده از کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده گردید. جدایه‌ی *P. protogenes* CHA0 یک جدایه‌ی استاندارد بین‌المللی با خصوصیات محرک رشد گیاهی بوده و جدایه‌ی *P. alloputida* RUM14 که از خاک مزارع ایران جداسازی شده و پیش از این خصوصیات محرک رشد آن به اثبات رسیده است (۲۷). همچنین جدایه‌ی *P. alloputida* RUM14 دارای آنزیم ای‌سی‌سی‌دی امیناز[1] می‌باشد که در تنظیم میزان اتیلن در گیاه تحت تنش مؤثر می‌باشد. به‌منظور مایه‌زنی جدایه‌های باکتری از روش کشاورز توحید و همکاران (۲۷) استفاده گردید. در این روش جدایه‌های باکتری در محیط کشت مغذی مایع رشد داده شدند و پس از جداسازی پیکره باکتری از محیط کشت مایع بوسیله سانتریفیوژ، از آنها سوسپانسیونی با چگالی نوری یک در جذب نوری ۶۰۰ تهیه گردید (OD_{600}=1). تیمار CHA0 و RUM14 با مایه‌زنی ۵۰ سی‌سی از سوسپانسیون تهیه‌شده باکتری به خاک گلدان حاوی گیاچه‌های ۱۴ روزه اعمال گردید. تیمار شاهد با آب مقطر استریل مایه‌زنی گردید.

1- ACC deaminase

انجام تیمار فیلترکیک

تیمار فیلترکیک یا گل صافی قبل از کاشت و هنگام آماده‌سازی گلدان‌ها صورت گرفت، به این صورت که قبل از کاشت بذرهای اسفناج در گلدان‌ها، ۹۰ گرم فیلترکیک تازه، تهیه شده از مؤسسه تحقیقات و اموزش نیشکر، شرکت توسعه‌ی کشت و صنعت نیشکر امیرکبیر در جنوب استان خوزستان، به‌صورت پودر و با خاک گلدان‌ها به‌صورت یکنواخت مخلوط گردید. این میزان فیلترکیک معادل ۳ درصد وزنی گلدان ۳ کیلویی می‌باشد (تیمار F3%). تیمار F0 فاقد فیلترکیک در نظر گرفته شد.

تیمار علف‌کش بر گیاهچه‌های اسفناج

بر اساس آزمایشات و مشاهدات اولیه انجام شده ۳ سطح علف‌کش متری‌بیوزین صفر (H0)، ۵۰ گرم (H1) و ۱۰۰ گرم (H2) در هکتار در نظر گرفته شد (به‌ترتیب معادل ۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم برای هر گلدان). سطوح مذکور در یک نوبت همراه با آب آبیاری در حد ظرفیت مزرعه به گلدان‌ها اضافه گردید. تیمار علف‌کش در هفته‌ی چهارم بعد از کشت بذور اسفناج انجام گرفت. تاثیر سطوح مختلف علف‌کش بر گیاه اسفناج به تنهایی، همراه با سایر تیمارها (باکتری ریزوسفری محرک رشد گیاه و فیلترکیک) بررسی گردید.

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در گلدان‌ها

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه برداری شده از مزرعه شامل بافت خاک به‌روش هیدرومتری (۱۵)، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک به‌روش چاپمن (۱۰)، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره‌ی گل اشباع به‌وسیله‌ی دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (۴۷)، واکنش یا اسیدیته‌ی خاک توسط دستگاه پ‌هاش‌متر در گل اشباع (۵۱)، سدیم محلول و پتاسیم قابل جذب با دستگاه فلیم فتومتر (۲۵)، نیتروژن کل به‌روش کجلدال (۱۹)، میزان ماده آلی به‌روش هضم تر (۵۳)، فسفر قابل جذب به‌روش اولسن با دستگاه اسپکتروفتومتر (۴۱)، درصد آهک (۱۹)، میزان جذب آهن، روی، مس و منگنز به‌روش لیندزی و نورول (۳۱) با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید (جدول ۱).

اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیلترکیک

میزان عناصر غذایی پرمصرف فیلترکیک (نیتروژن کل، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر) و کم‌مصرف (روی، آهن، مس و منگنز) از روش خشک‌سوزانی (۵۲) استفاده شد. اندازه‌گیری توسط مؤسسه تحقیقات و اموزش نیشکر، شرکت توسعه‌ی کشت و صنعت نیشکر امیرکبیر انجام گردید. همچنین در این تحقیق برخی خصوصیات دیگر شامل هدایت الکتریکی و اسیدیته (در حالت عصاره اشباع طبق

دستورالعمل مؤسسه تحقیقات و آموزش نیشکر) مواد آلی، خاکستر، رطوبت، C/N بر اساس روش و دستورالعمل‌های موسسه تحقیقات و آموزش نیشکر نیز اندازه‌گیری گردید (جدول ۲).

اندازه‌گیری عناصر پرمصرف، کم‌مصرف و تعیین ماده خشک اندام هوایی

به‌منظور بررسی میزان عناصر غذایی پرمصرف (پتاس، فسفر، کلسیم و منیزیم)، کم‌مصرف (مس، آهن و روی) و وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای مختلف انتهای هفته‌ی هشتم برداشت گیاهان به‌صورت دستی و با استفاده از قیچی باغبانی انجام گرفت. برای این منظور اندام‌هوایی گیاه از سطح خاک به‌وسیله‌ی قیچی باغبانی قطع گردید و در پاکت‌های کاغذی قرار گرفتند. به‌منظور تعیین وزن ماده خشک گیاه قطعات برداشت شده به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و سپس توزین شدند. در این آزمایش، برای اندازه‌گیری عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف از روش خشک‌سوزانی (۵۲) استفاده شد.

طرح آزمایشی و محاسبات آماری

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. با توجه به اینکه در گلخانه بر خلاف اتاق رشد شرایط دریافت نور یکسان نمی‌باشد و در طول روز با توجه به چرخش جهت تابش نور خورشید، نور دریافتی در گلخانه از طلوع تا غروب متفاوت هست لذا برای رفع این اشکال از طرح بلوک‌های کاملا تصادفی استفاده شد تا بلوک‌ها (تکرارها) در جهت عمود بر چرخش نور خورشید قرار گیرند و دریافت نور برای تمام گلدان‌ها از یکنواختی نسبی برخوردار باشند.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نشان داد که خاک نمونه‌برداری شده از مزرعه یک خاک آهکی با بافت لومی رسی و فقیر از مواد آلی می‌باشد (جدول ۱). کمبود مواد آلی در خاک باعث کمبود عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن می‌شود که به‌صورت عمده از منابع مختلف آلی و شیمیایی برای گیاه تأمین می‌گردند.

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این پژوهش

Table 1- Some physical and chemical properties of the soil and Filter cake used in this study

خصوصیات Properties	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC ($cmol^+/kg$)		مواد آلی OM (%)	شوری EC (dS/m)	pH	بافت خاک Soil texture	رس Clay %	لای Silt %	شن Sand %
خاک مزرعه از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری Soil sample (0-30 cm)	15.2		0.54	3.5	7.6	Clay Loam	31	38	31
	منگنز Mn (mg/kg)	روی Zn (mg/kg)	مس Cu (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب K (mg/kg)	فسفر قابل جذب P (mg/kg)	نیتروژن کل N (%)	آهک $CaCo_3$ (%)	سدیم محلول Na^+ (meq/L)
	9.4	1.2	1.9	4.5	225	3.2	0.06	37	10.76

جدول ۲- نتایج اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیلترکیک

Table 2- The results of measurement of some properties of Filter cake

فیلترکیک* Filter cake	فسفر P (mg/kg)	C/N	نیتروژن کل N (%)	خاکستر Ash (%)	مواد آلی قابل اکسیده OM (%)		شوری EC (dS/m)	pH	
	325	13.19	1.07	13.3	24.3		4.62	6.1	
	مس Cu (mg/kg)		روی Zn (mg/kg)		منگنز Mn (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	منیزیم Mg (mg/kg)	کلسیم Ca (mg/kg)	پتاسیم K (mg/kg)
	64		109.2		278	268	35040	78000	1800

*خصوصیات توسط موسسه تحقیقات و اموزش نیشکر، اندازه‌گیری شده است.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد مطالعه بر غلظت عناصر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر، روی، مس، آهن و وزن خشک در اندام‌هوایی گیاه اسفناج

Table 3- The results of variance analysis of the effect of treatments on the concentration of potassium, calcium, magnesium, phosphorus, zinc, copper, iron and leaf dry weight of spinach plant

منابع تغییرات s.o.v	وزن خشک اندام هوایی Leaf dry weight	آهن Fe	مس Cu	روی Zn	فسفر P	منیزیم Mg	کلسیم Ca	پتاسیم K	درجه آزادی df
علف‌کش Herbicide	34.34**	8627.62**	215.61**	3999.34**	6426613.96**	7997279.63**	7992279.64**	12585796296**	2
فیلترکیک Filter cake	21.05**	7245.39**	132.25**	4090.74**	782489.41**	9350016.67**	9352516.67**	170666667**	1
باکتری Bacteria	26.58**	3932.54**	83.08**	2005.55**	319464649.63**	12969846.30**	19969846.30**	1258351852**	2
علف‌کش×فیلترکیک Herbicide* Filter cake	0.19^{ns}	83.62^{ns}	37.68**	76.25*	9897.41^{ns}	8641116.67*	866161.67*	23166667^{ns}	2
علف‌کش×باکتری Herbicide* Bacteria	1.48**	51.32^{ns}	18.77**	49.94*	78657.41*	2004409.07^{ns}	210449.16^{ns}	3796296^{ns}	4
فیلترکیک×باکتری Filter cake* Bacteria	3.99**	225.81^{ns}	1.70^{ns}	3.85^{ns}	16853.58^{ns}	191383.89**	119338.89**	722222^{ns}	2
باکتری×فیلترکیک×علف‌کش Herbicide* Filter cake* Bacteria	0.01^{ns}	51.32^{ns}	4.91**	29.82^{ns}	29938.19^{ns}	498363.89*	49843.89*	1722222^{ns}	4
خطای آزمایشی Erorr	0.24	74.77	0.1973981	14.51	47580.00	1172721.22	1712271.22	12351852	36
ضریب تغییرات (%) (CV)	9.55	4.96	9.81	7.57	8.43	5.35	5.20	5.28	-

ns، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, * and ** are non-significant, significant at $P \le 0.05$ and $P \le 0.01$, respectively.

برخی از خصوصیات اندازه‌گیری شده برای فیلترکیک

براساس نتایج حاصل از تجزیه‌ی فیلترکیک، این ماده‌ی آلی دارای پ-هاش نسبتا اسیدی بوده و بر مبنای وزن خشک، حاوی مقادیر قابل توجهی عناصر غذایی پر مصرف از جمله: فسفر، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و نیتروژن و کم‌مصرف شامل روی، مس، منگنز و آهن می‌باشد (جدول ۲). از لحاظ خصوصیات ظاهری فیلترکیک دارای ظاهری اسفنجی و سیاه رنگ است که ظرفیت جذب رطوبتی بالایی دارد. این ماده مهم‌ترین پسماند تولید شکر می‌باشد. در واقع، فیلترکیک یا گل صافی بقایای حاصل از تصفیه (فیلتر) نمودن شربت نیشکر در فرایند استحصال شکر در کارخانه می‌باشد.

تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر پر مصرف و کم مصرف و وزن خشک

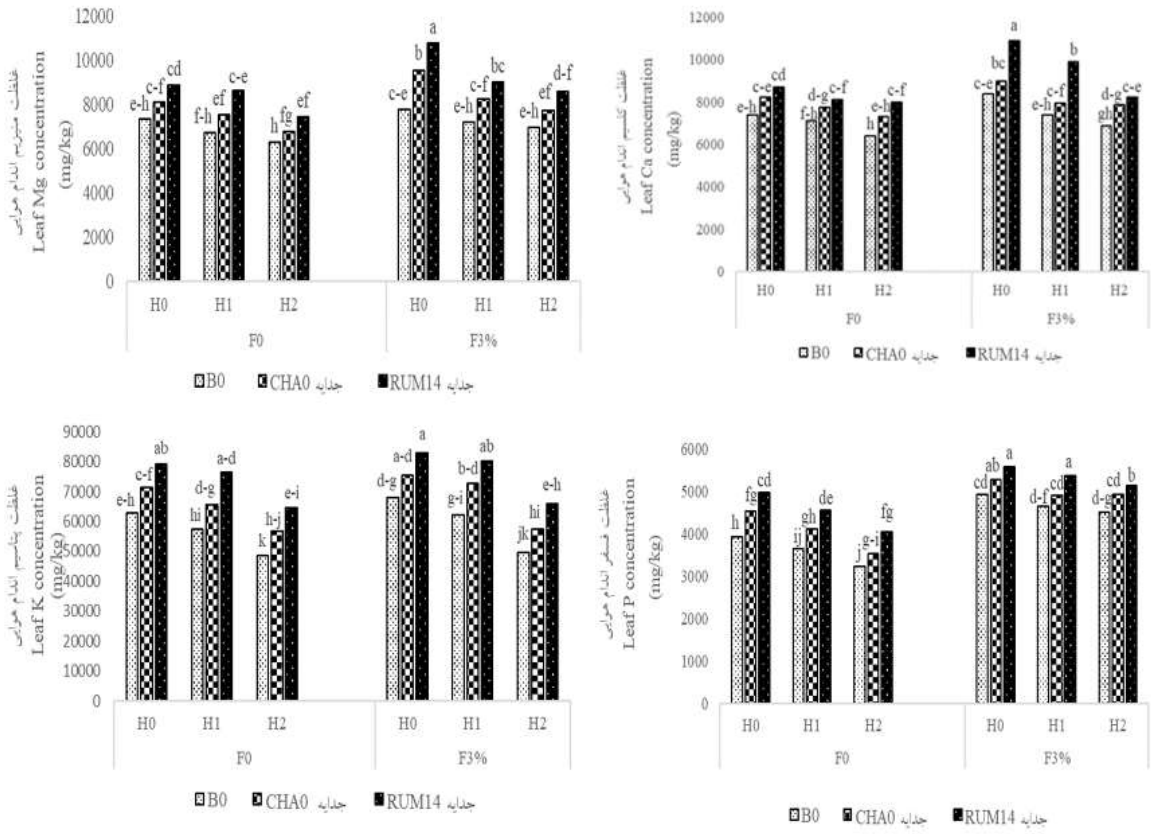
جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثرات اصلی علف‌کش، فیلترکیک، باکتری در سطح احتمال ۱ درصد بر غلظت عناصر پر مصرف (پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر)، کم‌مصرف (روی، مس و آهن) و وزن خشک در اندام هوایی گیاه معنی‌دار شد. مطابق با نتایج تجزیه واریانس مشاهده می‌شود که اثرات متقابل تیمارهای علف‌کش و فیلترکیک، برای عناصر کلسیم، منیزیم و روی در سطح احتمال ۵ درصد، و برای عنصر مس در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل علف‌کش و باکتری، برای عناصر فسفر و روی در سطح احتمال ۵ درصد و برای عنصر مس و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل فیلترکیک و باکتری برای عناصر کلسیم، منیزیم و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳).

تأثیر باکتری ریزوسفری محرک رشد، فیلترکیک و علف‌کش بر غلظت عناصر پر مصرف

بررسی آماری بر هم‌کنش سه‌گانه‌ی علف‌کش، فیلترکیک و باکتری سودوموناس برای عناصر کلسیم و منیزیم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. این بررسی سه‌گانه نشان داد، بیشترین غلظت این عناصر در گیاه اسفناج مربوط به تیمار عدم کاربرد علف‌کش و استفاده‌ی همزمان از فیلترکیک و باکتری سودوموناس جدایه RUM14 می‌باشد (RUM14+F3%+H0) و پس از آن تیمار RUM14+F3%+H1 از نظر آماری در جایگاه بعد قرار گرفت (شکل ۱). همچنین بررسی‌های آماری نشان داد کم‌ترین غلظت عناصر پر مصرف در اندام هوایی متعلق به عدم کاربرد باکتری ریزوسفری محرک رشد و فیلترکیک و استفاده ۱۰۰ گرم در هکتار علف‌کش می‌باشد (B0+F0+H2) (شکل ۱). بررسی‌های آماری نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت علف‌کش میزان غلظت عناصر پر مصرف در اندام هوایی اسفناج کاهش می‌یابد، اما استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد خصوصا RUM14 و یا فیلترکیک (F3%) کمبود عناصر پر مصرف در اندام هوایی گیاهان تحت تنش را جبران می‌نماید. بیشترین غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر با میانگین به‌ترتیب ۸۳۰۰۰، ۱۰۸۸۶/۷، ۱۰۷۶۶/۶ و ۵۵۸۳/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک در تیمار (RUM14+F3%+H0) و کم‌ترین غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر در اندام هوایی با میانگین به‌ترتیب ۴۸۸۶۷، ۶۴۰۳/۳، ۶۲۸۳/۳ و ۳۲۳۳/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک در تیمار (B0+F0+H2) می‌باشد.

پیش از این سایر محققیقن نشان دادند که استفاده از باکتری‌های سودوموناس و فیلترکیک می‌تواند میزان عناصر پر مصرف در گیاهان مختلف را افزایش دهد. محمودزاده و همکاران (۳۳) نشان دادند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و قارچ‌های آربسکولار میکوریزا از طریق تجزیه سیلیکات‌ها و انحلال کانی‌ها باعث آزادسازی پتاسیم و افزایش جذب عناصر غذایی پر مصرف مانند نیتروژن و فسفر در گیاه نعناع فلفلی می‌گردد. شریفی (۴۹) بیان کرد استفاده از فیلترکیک باعث افزایش فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در نیشکر می‌گردد. همچنین بهمنیان و همکاران (۷) تاثیر فیلتر کیک در افزایش عنصر کلسیم در گیاه گشنیز را نشان داد.

نتایج این تحقیق نیز بیان‌گر افزایش میزان عناصر پر مصرف با استفاده از باکتری‌های سودوموناس و فیلترکیک در گیاه اسفناج می‌باشد. اما نکته‌ی قابل توجه در این تحقیق افزایش بیشتر عناصر پر مصرف در گیاه اسفناج در استفاده‌ی همزمان این دو تیمار است به‌نحوی که تنش ناشی از استفاده‌ی علف‌کش را به‌میزان زیادی کنترل می‌نماید. تحقیقات پیشین نشان داده است که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی با فعالسازی سیگنال‌های دفاعی مانند هیدروژن پراکساید (H_2O_2) و یا نیتریک اکساید (NO) گیاه را برای دفاع در برابر تنش‌زنده و غیره زنده مقاومتر می‌نمایند. این باکتری‌ها در ادامه با تحریک گیاه به تولید انواع آنتی اکسیدانت‌ها (مانند پراکسیداز، کاتالاز و...) باعث تنظیم سیگنال‌های دفاعی در گیاه شده و مانع از آسیب گیاه بر اثر تولید بی‌رویه این سیگنال‌ها در گیاه می‌گردند (۴۲ و ۲۸). همچنین این باکتری‌ها با افزایش حجم ریشه می‌توانند باعث افزایش وزن خشک و جذب بیشتر عناصر در گیاه شوند (۲۸). پیشتر کشاورز توحید و همکاران (۲۸) توانایی جدایه CHA0 و RUM14 در القا گیاه به تولید سیگنال، تنظیم فعالیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش حجم ریشه نشان داده‌اند که این عوامل می‌تواند از علل بهبود رشد گیاه اسفناج و کاهش تنش ناشی از علف‌کش در گیاه اسفناج باشد.



شکل ۱- تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه *P. protogenes* CHA0 و *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک بر غلظت عناصر پر مصرف پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر در گیاه اسفناج در سطوح مختلف علف‌کش

میانگین‌های با حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد می‌باشند.

Figure 1- The effect of plant growth-promoting bacteria *P. protogenes* CHA0 and *P. alloputida* RUM14 and filter cake on the concentration of macro nutrients (potassium, calcium, magnesium and phosphorus) in spinach at different levels of herbicide

Means with the same letters according to the Duncan test have no significant difference at the statistical level of 5%.

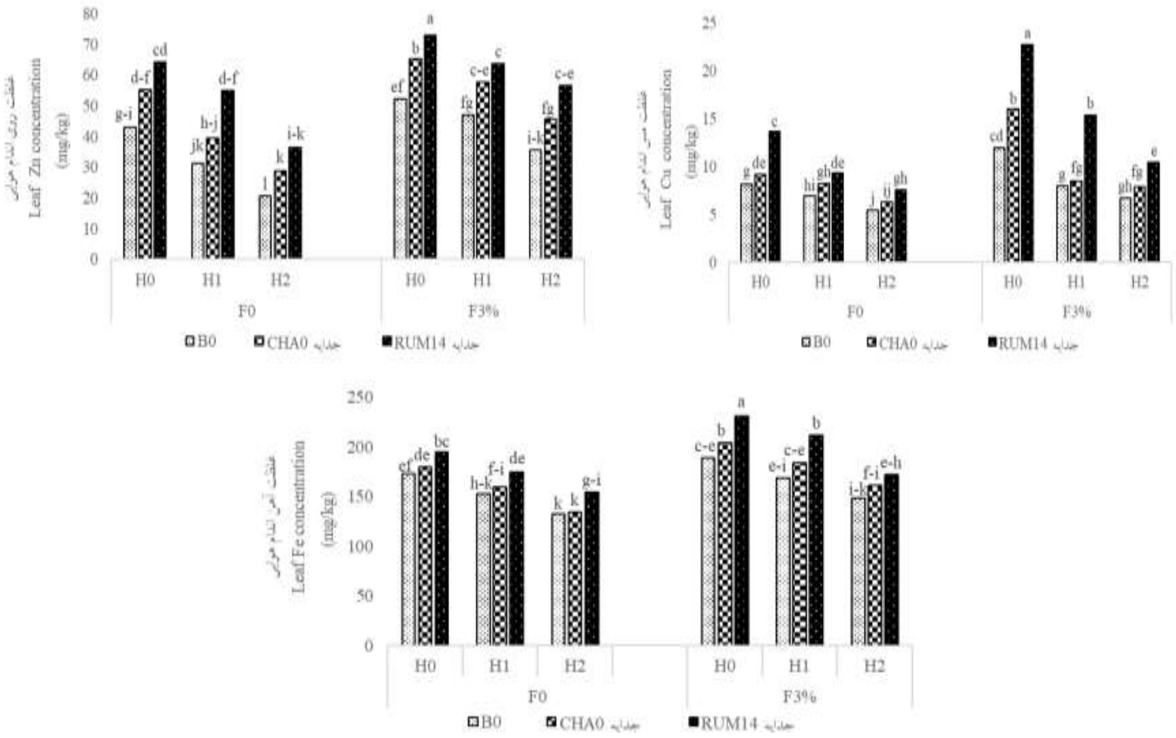
تأثیر باکتری ریزوسفری محرک رشد، فیلترکیک و علف‌کش بر غلظت عناصر کم‌مصرف

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس، بر هم‌کنش سه‌گانه‌ی علف‌کش، فیلترکیک و باکتری سودوموناس، برای عنصر مس در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. بیشترین غلظت روی، مس و آهن در گیاه اسفناج (به‌ترتیب با میانگین ۷۳، ۲۲/۷۳ و ۲۳۱/۳۶ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن ماده خشک)، مربوط به تیمار RUM14+F3%+H0 می‌باشد و تیمار CHA0+F3%+H0 در جایگاه بعد قرار گرفت (شکل ۲). کم‌ترین غلظت عناصر کم‌مصرف روی، مس و آهن در اندام هوایی گیاه اسفناج (به‌ترتیب با میانگین ۱۹/۵۰، ۴/۴۰ و ۱۳۲/۶۶۷ میلی‌گرم در کیلوگرم) مربوط به تیمار استفاده‌ی ۱۰۰ گرم در هکتار علف‌کش به‌تنهایی و بدون کاربرد فیلترکیک و باکتری ریزوسفری محرک رشد (B0+F0+H2)، می‌باشد (شکل ۲). پیش از این شریفی (۴۹) و داوری‌راد و همکاران (۱۱)، تاثیر مثبت فیلترکیک در افزایش عناصر کم‌مصرف را به‌ترتیب در کلزا و شبدر نشان دادند. آن‌ها نشان دادند که فیلترکیک باعث افزایش عنصر مس در کلزا و روی، مس و آهن در شبدر می‌گردد. همچنین تأثیر استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد در افزایش عناصر کم‌مصرف در گیاهان توسط محققین مختلف نیز نشان داده شده است. استیکن و همکاران (۱۳) بیان کردند با استفاده از جدایه‌های باکتری سودوموناس و باسیلوس میزان روی در برگ توت‌فرنگی افزایش می‌یابد (۱۳). شیرمردی و همکاران (۵۰) با تلقیح بذر افتابگردان به باکتری سودوموناس فلورسنت نشان دادند که این باکتری باعث افزایش معنی‌داری در جذب روی و مس می‌گردد.

گیاهان می‌توانند از سیدروفورهای تولید شده توسط باکتری‌ها به‌عنوان عاملی برای تأمین آهن مورد نیاز خود استفاده کنند (۳۰ و ۵). نیک‌مهر و همکاران (۲۰۱۴)، بیان کردند که کاربرد جدایه‌های باکتری سودوموناس باعث افزایش معنی‌دار آهن در گیاه کنجد می‌گردد (۴۰). دو جدایه CHA0 و RUM14 نیز توانایی تولید سیدروفور داشته (۲۷) که می‌تواند یکی از دلایل افزایش عنصر آهن در گیاه اسفناج در این تحقیق باشد.

برخی از باکتری‌های محرک رشد گیاهی توانایی تجزیه علف‌کش‌ها را دارا می باشند. رضایی و همکاران (۴۶) نشان دادند که گونه‌های مختلف سودوموناس توانایی تجزیه علف‌کش آترازین را دارا می‌باشند. همچنین اینتاما و همکاران (۲۰۲۱) توانایی باکتری باسیلوس در تجزیه پاراکوآت را بیان کردند. با توجه به اینکه جدایه‌هایی از گونه *P. alloputida* نیز توانایی تجزیه ترکیبات عالی را دارا می‌باشند (۲۹) احتمال تجزیه علف‌کش متری‌بیوزین توسط جدایه RUM14 مورد استفاده در این تحقیق نیز وجود داشته که اثرات مضر علف‌کش را در گیاه اسفناج کاهش می‌دهد.

بررسی آماری نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از باکتری سودوموناس به‌عنوان باکتری ریزوسفری محرک رشد گیاهی و فیلترکیک به‌تنهایی می‌توانند میزان عناصر کم مصرف را در گیاه اسفناج در شرایط عادی و همچنین در شرایط تنش ناشی از استفاده‌ی علف‌کش افزایش دهند. همچنین مشاهده گردید استفاده همزمان این دو تیمار بهترین تاثیر در کاهش تنش ناشی از علف‌کش را دارا می‌باشد. یانگ و همکاران (۵۴) بیان کردند که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی در کنترل انواع تنش‌های محیطی و افزایش جذب مواد غذایی توسط گیاهان موثر می‌باشند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری سودوموناس جدایه‌ی RUM14 در مقایسه با جدایه‌ی CHA0 نه‌تنها در شرایط عادی بلکه در شرایط تنش ناشی از استفاده علف‌کش جذب عناصر کم‌مصرف را بیشتر افزایش داده و این توانایی می‌تواند به‌دلیل سازگاری این جدایه با خاک و آب و هوای ایران و داشتن آنزیم ای‌سی‌سی‌دی آمیناز در تنظیم میزان اتیلن در گیاه تحت تنش باشد (۲۷ و ۲۰).

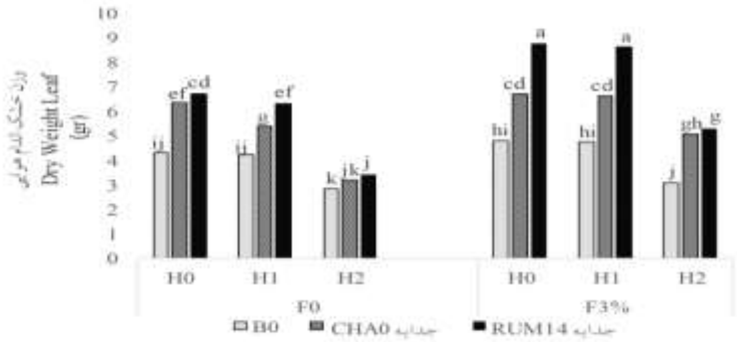


شکل ۲- تأثیر استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد *P. protogenes* CHA0، *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک بر غلظت عناصرکم‌مصرف روی، مس وآهن در گیاه اسفناج در سطوح مختلف علف‌کش

میانگین‌های با حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد می‌باشند.

Figure 2– The effect of plant growth-promoting bacteria *P. protogenes* CHA0, *P. alloputida* RUM14 and filter cake on the concentration of micro nutrients (zinc, copper and iron) in spinach at different levels of herbicide

Means with the same letters according to Duncan test have no significant difference at the statistical level of 5%.



شکل ۳- تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد *P. protogenes* CHA0 و یا *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک بر وزن ماده خشک اندام هوایی اسفناج در سطوح مختلف علف‌کش

میانگین‌های با حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح آماری ۵ درصد می‌باشند.

Figure 3– The effect of plant growth-promoting bacteria *P. protogenes* CHA0 or *P. alloputida* RUM14 and filter cake on leaf dry weight of spinach at different levels of herbicide

Means with the same letters according to Duncan test have no significant difference at the statistical level of 5%.

تأثیر باکتری ریزوسفری محرک رشد، فیلترکیک و علف‌کش بر وزن خشک اندام هوایی گیاه اسفناج

بررسی‌های آماری این تحقیق نشان داد بیشترین وزن خشک گیاه با میانگین ۸/۷۶ و ۷/۶۸ گرم به‌ترتیب در تیمار RUM14+F3%+H0 و RUM14+F3%+H1 و کم‌ترین وزن خشک با میانگین ۲/۸۳ گرم در تیمار B0+F0+H2 ملاحظه گردید (شکل ۳). با توجه به اینکه علف‌کش متری‌بیوزین باعث اختلال در زنجیره‌ی انتقال الکترون در فتوسیستم II می‌شود (۵۵) به‌نظر می‌رسد علت این کاهش در میزان وزن خشک اندام هوایی به‌علت کاهش در فتوسنتز و تولید قند می‌باشد. بخش‌محمدنژاد و ایزدی (۸)، بیان کرد کاربرد علف‌کش‌های اکسی‌فلورفن، ارادیکان، متری‌بیوزین و پندی‌متالین سبب کاهش وزن خشک گیاه بالنگو (*Lallemantia* sp.) می‌شود. هوانگ و همکاران (۲۲) نیز گزارش کرده‌اند که کاهش وزن ماده خشک اندام هوایی گیاه ذرت، تحت سمیت متری‌بیوزین، به‌علت کاهش فتوسنتز و به‌دنبال آن اختلال در انباشتگی کربوهیدرات‌ها می‌باشد. همچنین مطابق با نتایج مکاریان و همکاران (۳۴)، کاربرد علف‌کش متری‌بوزین به طور قابل توجهی باعث کاهش ماده خشک اندام هوایی گیاه ذرت و جو می‌شود. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که استفاده از علف‌کش متری‌بیوزین باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی اسفناج شده و با افزایش غلظت علف‌کش کاهش وزن خشک افزایش می‌یابد که با نتایج محققین پیشین همخوانی دارد.

پشت‌دار و همکاران (۴۵) و الهی‌نیک و همکاران (۱۲) نشان دادندکه استفاده از فیلترکیک به‌ترتیب باعث افزایش ماده خشک در ذرت و دانهال‌های پسته می‌گردد. در این تحقیق نیز تیمار گیاهچه‌های اسفناج با فیلترکیک در تنش و یا بدون تنش علف‌کش باعث افزایش وزن خشک گردید. در تحقیقی دیگر منجزی و همکاران (۳۵)، بیان کردند که با افزایش مصرف فیلترکیک و کود زیستی وزن ماده‌ی خشک کلزا افزایش می‌یابد. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که استفاده‌ی همزمان فیلترکیک و باکتری‌های سودوموناس محرک رشد گیاهی (RUM14+F3%) نه‌تنها بهترین اثر در افزایش وزن خشک در گیاه اسفناج را داشته بلکه این تیمار بیشترین تأثیر در کاهش تنش ناشی از استفاده علف‌کش را دارا می‌باشد (شکل ۳). برخی از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی با تولید هورمون‌های گیاهی (مانند اکسین و سیتوکنین) باعث افزایش رشد در گیاه می‌گردند. برخی دیگر با تولید سیدروفور باعث افزایش جذب آهن در گیاه و در نتیجه افزایش رشد گیاه می‌گردند (جدایه‌های این تحقیق نیز توانایی تولید سیدروفور را دارا می‌باشند (۲۷)).

تنش‌های زیستی (حمله انواع پاتوژن) و غیر زیستی (آلاینده‌های آلی، شوری، خشکی، فلزات و ...) باعث افزایش ۱-آمینوسیکلوپروپان۱-کربوکسیلات[1] (ACC) شده که نتیجه آن افزایش اتیلن در گیاه و ایجاد زردی و ریزش برگ می‌گردد (۲۰). گلیک (۲۰) بیان می‌کند کاهش ACC به روش شیمیایی و یا استفاده از میکروارگانیسم‌هایی که دارای آنزیم ای‌سی‌سی دی‌آمیناز می‌باشند می‌توانند باعث کاهش خسارت ناشی از افزایش اتیلن در گیاهان تحت تنش گردند. تعدادی از باکتری‌های محرک رشد گیاهی با تولید آنزیم ای‌سی‌سی‌دی آمیناز پیش ماده تولید اتیلن (ACC) را در گیاهان تحت تنش کاهش داده و مانع افزایش این هورمن در شرایط تنش‌زا شده و در نتیجه باعث کاهش زردی و ضعف در گیاه می‌گردند. افزایش تولید اتیلن در گیاهان بر اثر استفاده از علف‌کش‌ها قبلا توسط

5-1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)

برخی از محققین بیان شده است (۲) بنابراین احتمال کاهش اتیلن توسط آنزیم ای‌سی‌سی‌دی آمیناز تولید شده توسط جدایه *P. alloputida* RUM14 وجود داشته و می‌تواند یکی از دلایل موفقیت این جدایه در کاهش تنش ناشی از علف‌کش متری‌بیوزین در گیاه اسفناج باشد. از طرف دیگر تعداد زیادی از جدایه‌های گونه *P. alloputida* دارای توانایی زیست پالایندگی و تجزیه‌کنندگی ترکیبات آروماتیک می‌باشند (مانند *P. alloputida* K2440, JLR11, S12, ND6) بنابراین توانایی تجزیه علف‌کش متری‌بیوزین و کاهش آسیب به گیاه اسفناج توسط جدایه *P. alloputida* RUM14 دور از انتظار نیست (۲۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی (*P. alloputida* RUM14 و *P. protogenes* CHA0) و فیلترکیک (به‌عنوان کود آلی) باعث افزایش مواد معدنی برگی از جمله عناصر پرمصرف (پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر) و عناصر کم‌مصرف (مس، روی و آهن) و همچنین وزن ماده خشک اندام هوایی اسفناج می‌گردند. در این میان بیشترین تغییرات در گیاهان تیمار شده با باکتری *P. alloputida* RUM14 مشاهده گردید. استفاده‌ی همزمان از جدایه‌ی *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک افزایش چشم‌گیری در غلظت عناصر پرمصرف و کم‌مصرف و وزن خشک اسفناج داشت. در ادامه مشاهده شد علف‌کش متری‌بیوزین منجر به کاهش غلظت عناصر و وزن خشک برگی می‌گردد. اما گیاهان تیمار شده با باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و فیلتر کیک خصوصا ترکیب توام جدایه‌ی *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک شدیدا تنش ناشی از استفاده‌ی علف‌کش متری‌بیوزین را کاهش داد. هرچند مواد آلی موجود در خاک سبب کنترل آب‌شویی آفت‌کش‌ها و کاهش آلودگی آب‌های زیر زمینی می‌شود اما افزایش فعالیت میکروبی خاک می‌تواند سبب تسریع فرایند تجزیه‌ی علف‌کش شود. همانطور که ذکر گردید توانایی زیست‌پالایندگی جدایه‌های *P. alloputida* قبلا توسط سایر محققین گزارش گردیده شده است. با توجه به بهبود جذب عناصر و وزن خشک اسفناج تحت تنش علف‌کش در زمان استفاده از *P. alloputida* RUM14 احتمال توانایی این جدایه در تجزیه علف‌کش متری‌بیوزین نیز امکان‌پذیر بوده اما نیازمند تحقیقات بیشتر در این خصوص می‌باشد. از طرف دیگر *P. alloputida* RUM14 با داشتن آنزیم ای‌سی‌سی‌دی آمیناز توانایی تنظیم اتیلن در گیاه اسفناج را دارا می‌باشد. در مجموع توانایی تیمار باکتری ریزوسفری محرک رشد گیاهی و فیلتر کیک در افزایش رشد گیاه اسفناج را می‌توان ناشی از ۱- تأمین مواد غذایی بیشتر برای گیاه اسفناج به‌دلیل غنی بودن فیلتر کیک ۲- توانایی باکتری‌های سودوموناس در القا مقاومت در گیاه تحت تنش، تأمین برخی از مواد غذایی مانند آهن بدلیل توانایی تولید سیدروفور ۳- تأمین مواد غذایی توسط فیلتر کیک برای رشد بیشتر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاهی و احتمال افزایش جمعیت این باکتری‌ها در استفاده همزمان با فیلتر کیک ۴- غنی بودن فیلتر با مواد آلی که وضعیت فیزیکی و بیولوژیکی خاک را بهبود می‌بخشد دانست. نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری ریزوسفری محرک رشد گیاهی *P. alloputida* RUM14 و فیلترکیک، پتانسیل مناسب برای تولید کودهای زیستی و آلی و همچنین کاهش اثرات منفی علف‌کش را دارا می‌باشند.

منابع

1- Abdollahi L. 2005. Investigation of the effect of filter cake and bagasse as organic fertilizer on changes in carbon content, soil nutrient content, soil properties and growth and yield of sugarcane. Master Thesis of Chamran University. Ahvaz. (In Persian)

2- Abeles F.B. 1968. Herbicide-induced ethylene production: role of the gas in sublethal doses of 2, 4-D. Weed Science 16(4): 498-500.

3- AghaAlikhani M., Iranpour A., and Naghdi Badi H. 2013. Changes in agronomical and phytochemical yield of purple coneflower (*Echinaceae purpurea* (L.) Moench) under urea and three biofertilizers application. Journal of Medicinal Plants 12(46): 121-136. (In Persian with English abstract)

4- Ahmad F., Ahmad I., and Khan M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research 163(2): 173-181.

5- Ahmad M., and Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria current perspective. Journal of King Saud University- Science 26(1): 1–20.

6- Ahmadi A., Najafgholi H.M., Aeini M., and Kakulvand K. 2021. Isolation and Identification of Othello, Atlantis, and Puma Super Herbicide-resistant Bacteria Isolated from the Soil of Wheat Farms 37: 67-77. (In Persian with English abstract)

7- Bahmanian H., Nadian H., and Rangzan N. 2018. Investigation of the interaction effect of mycorrhiza fungus and filter cake on the yield of coriander. Agricultural Engineering (Scientific Journal of Agriculture) 43(2): 143-161. (In

Persian with English abstract)
8- Bakhsh Mohammad Nejad R., and Izadi Darbandi I. 2015. Evaluation of the effect of some herbicides on the growth and yield of (*Lallemantia royleana* Benth). 6th Chemical management of weeds and herbicides. Birjand, Iran. (In Persian)
9- Bunea A., Andjelkovic M., Socaciu C., Bobis O., Neacsu M., Verhe R., and Van Camp J. 2008. Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh. Refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.). Food Chemistry 108: 649–656.
10- Chapman H.D. 1965. Cation Exchanges Capacity. p. 891-901. In: C.A. Black (ed.) Methods of soil analysis, part 2. ASA, Madison, WI.
11- Davari Rad M., Nadian H., Rangzan N., and Farkhari M. 2017. Effect of different levels of phosphate and filter cake on some growth and nutritional components of clover plant colonized with Arbuscular mycorrhiza. Bavi, The first national conference on Agricultural and Environmental Sciences of Iran. Mollasani, Iran. (In Persian)
12- Elahi Nik B., Heidari M., Salehi Salmi M., and Nadian H. 2018. The effects of filter cake and calcium nitrate on vegetative growth and the amount of some elements in pistachio seedlings. The second national conference of Iranian pistachios. Rafsanjan, Iran. (In Persian)
13- Estiken A., Yildiz H.E., Ercisli S., Donmez M.F., Turan M., and Gunes A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contens of organically growth strawberry. Scientia Horticulture 124(2): 62-66.
14- Fennimore S.A., Smith R.F., and Mc Giffen M.E. 2001. Weed management in fresh market spinach with S-metolachlor. Weed Technology 15(3): 511-516.
15- Gee G.W., Bauder J.W., and Klute A. 1986. Particle-size analysis. p. 383-411. Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. SSSA, Madison, WI.
16- Georgian A., Shahidi Yasaki A., and Hassan Sarai A. 2014. New methods of recycling and quality improvement of products from the wastes of sugar factories. The first national conference on the development of comprehensive strategic quality in food health. Tehran, Iran. (In Persian)
17- Ghasem J.N., Nadian H.E., Khalil M.B., Heydari M., and Gharineh M.H. 2015. Influence of mycorrhizal symbiosis on growth and proline content in Leek (*Allium porrum* L.) and two genotypes of persian Leek (*Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* L.) under drought stress. Journal of Plant Production 38(1): 15-26. (In Persian with English abstract)
18- Ghasem J.N., Nadian H., Khalili M.B., Heidary M., and Gharineh M. 2015. influence of arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress on some macronutrient uptake in three leek genotypes with different root morphology. Journal of Water and Soil 29(1): 198-209. (In Persian with English abstract)
19- Ghazanshahi M.J. 1997. Plant and Soil Analysis. Homa Press, Tehran. (In Persian)
20- Glick B.R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological Research 161(1): 30-39.
21- Gupta M., Kiran S., Gulati A., Singh B., and Tewari R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of Aloe barbadensis Miller. Microbiology Research 167(6): 358-363.
22- Huang H., Zhang S.H., Shan X.Q.B., Chen D., Zhu Y.G., and Bell J.N.B. 2007. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus caledonium*) on the accumulation and metabolism of atrazine in maize (*Zea mays* L.) and atrazine dissipation in soil. Environmental Pollution 146(2): 452-457.
23- Inanloofar M., Omidi H., and Pazoki A.R. 2013. Morphological, agronomical changes and oil content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) under drought stress and biological/chemical fertilizer of nitrogen. Journal of Medicinal Plants 12(48): 170-184. (In Persian with English abstract)
24- Inthama P., Pumas P., Pathom-Aree W., Pekkoh J., and Pumas C. 2021. Plant Growth and Drought Tolerance-Promoting Bacterium for Bioremediation of Paraquat Pesticide Residues in Agriculture Soils. Frontiers in Microbiology 12: 446.
25- Jackson M.L. 1969. Soil Chemical Analysis-Advanced Course. Soil Chemical Analysis-Advanced Course. University of Wisconsin press, Madison.
26- Jilani S., and Khan M.A. 2006. Biodegradation of Cypermethrin by pseudomonas in a batch activated sludge process. Journal of Environmental Science & Technology 3(4): 371-380.
27- Keshavarz-Tohid V., Taheri P., Muller D., Prigent-Combaret C., Vacheron J., Taghavi S.M., Tarighi S., and Moenne-Loccoz Y. 2017. Phylogenetic diversity and antagonistic traits of root and rhizosphere pseudomonads of bean from Iran for controlling *Rhizoctonia solani*. Research in Microbiology 168(8): 760-772.
28- Keshavarz-Tohid V., Taheri P., Taghavi S.M., and Tarighi S. 2016. The role of nitric oxide in basal and induced resistance in relation with hydrogen peroxide and antioxidant enzymes. Journal of Plant Physiology 199: 29-38.
29- Keshavarz-Tohid V., Vacheron J., Dubost A., Prigent-Combaret C., Taheri P., Tarighi S., Taghavi S.M., Moenne-Loccoz Y., and Muller D. 2019. Genomic, phylogenetic and catabolic re-assessment of the *Pseudomonas putida* clade supports the delineation of *Pseudomonas alloputida* sp. nov., *Pseudomonas inefficax* sp. nov., *Pseudomonas*

persica sp. nov., and *Pseudomonas shirazica* sp. nov. Systematic and Applied Microbiology 42(4): 468-480.
30- Kuffner M., Puschenreiter M., Wieshammer G., Gorfer M., and Sessitsch A. 2008. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows, Plant Soil 304(2): 35-44.
31- Lindsay W.L., and Norvell W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. Soil Science Society of American Journal 42(3): 421-428.
32- Madhaj A., and Sabet Zangeneh H. 2015. Chemical control of spinach weeds (Spinacia oleracea). Mashhad, Journal of Plant Protection 29(4): 511-520. (In Persian with English abstract)
33- Mahmoudzadeh M., Rasouli Sedghiani H., and Asgari Lajair H. 2015. The effect of rhizosphere bacteria stimulating plant growth and Arbuscular mycorrhizal fungi on morphological characteristics and concentrations of high consumption elements of peppermint (*Mentha piperita* L.) in greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Cultivation 24(6): 155-167. (In Persian with English abstract)
34- Makarian H., Poozesh V., Asghari H.R., and Nazari M. 2016. Interaction Effects of Arbuscular Mycorrhiza Fungi and Soil Applied Herbicides on Plant Growth. Communications in Soil Science and Plant Analysis 47(5): 619-629.
35- Manjezi H., Moradi Talawat M., Siadat A., Kouchakzadeh A., and Hamdi H. 2014. The effect of application of sugarcane Filter cake, chemical fertilizer and biofertilizer on the yield and quality of rapeseed and some soil properties. Journal of Crop Improvement 16(2): 445-457. (In Persian with English abstract)
36- Mitter E.K., Tosi M., Obregón D., Dunfield K.E., and Germida J.J. 2021. Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: innovative biofertilizer technologies. Frontiers in Sustainable Food Systems, 5, 29.
37- Nadian H. 2011. Effect of drought stress and mycorrhizal symbiosis on growth and phosphorus uptake by two Sorghum cultivars different in root morphology. Journal of Water and Soil Science 15(57): 127-139. (In Persian with English abstract)
38- Nadian H., Heidari M., Gharineh M.H., and Daneshvar M.H. 2013. The effects of different levels of sodium chloride and mycorrhizal colonization on growth, P, K and Na uptake by saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Plant Productions 36(2):49-59. (In Persian with English abstract)
39- Nadian H., Jafari S., and Sadeghzadeh B. 2015. Effect of different levels of salinity and urea fertilizer on growth components, proline content, ionic composition of straw syrup and absorption of some nutrients by sugarcane (commercial variety CP69-1062). Environmental Stresses in Crop Sciences 8(1): 53-61. (In Persian with English abstract)
40- Nikmehr S., Akhgar A., Madah Hosseini Sh., and Mozaffari V. 2014. The effect of Pseudomonas phosphate-soluble fluorescents and phosphorus fertilizers on growth and nutrient uptake in sesame plant. Journal of Soil Management and Sustainable Production 4(3): 61-86. (In Persian with English abstract)
41- Olsen S.R., Sommers L.E., and Page A.L. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties of Phosphorus p. 403-430. Agronomy monograph, ASA, Academic Press, Madison.
42- Ortega-Galisteo A.P., Rodríguez-Serrano M., Pazmiño D.M., Gupta D.K., Sandalio L.M., and Romero-Puertas M.C. 2012. S-Nitrosylated proteins in pea (*Pisum sativum* L.) leaf peroxisomes: changes under abiotic stress. Journal of Experimental Botany 63(5): 2089-2103.
43- Pauzesh Shirazi M., and Rakhshandero M. 2008. Studying the effects of irrigation regimes, plant density and cultivation method on spinach yield. Water and Soil Science 22(2): 187-198 (In Persian with English abstract)
44- Peyvast Gh. 2011. Vegetable. Guilan University Press. (In Persian)
45- Poshtdar A., Siadat A., Abdali Mashhadi A., Moosavi A., and Hamdi H. 2012. Comparison between application of PGPR bacteria and chemical fertilizers on quality and total silage yield of maize under different organic seed bed. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 11(4): 713-717.
46- Rezaei D., Haghnia Gh., Lakzian A., Hassanzadeh Khayyat M., and Nasirly H. 2011. Study of Atrazine Biodegradation by *Pseudomonas fluorescence* and *Pseudomonas aeruginosa* (*In Vitro*). Journal of Water and Soil 25(4): 799-806. (In Persian with English abstract).
47- Rhoades J. 1986. soluble salt. p. 167-180. in: A.L., Miller, R.H., Keeny, D.R (eds). Methods of Soil Analysis, part 2. chemical and microbiological properties. 2nd edition ASA and SSSA, Madison, WI.
48- Safari-Zargani H., Nadian H., Rangzan N., and Moradi-Talavat M. 2021. Effect of Different Levels of Salinity, Zinc, and Sulfur Inoculated with Thiobacillus on Rapeseed Growth Parameters and Some Nutrient Uptake (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Soil Research 34(4): 529-545. (In Persian with English abstract)
49- Sharifi M. 2014. The effect of filter cake fertilizers, humic acid and humic base on quantitative and qualitative components of sugarcane under different salinity levels. Master Thesis of Ramin University of Agriculture and Natural Resources. Press, 125p. (In Persian)
50- Shirmardi M., Savaghebi G., Khavazi K., Farahbakhsh M., Rejali F., and Sadat A. 2010. Investigation of mycorrhiza and *Pseudomonas* on leaf water potential and yield of two sunflower (*Helianthus annus*) cultivars in a saline soil. Iran Soil and Water Research Journal 2: 221-228. (In Persian with English abstract).
51- Thomas G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. p. 475-490. In: D.L. Sparks et al. (eds.) Methods of Soil Analysis, Part III, 3rd Ed. ASA, Madison, WI.
52- Waling I., Vark V.I.W., Houba V.J.G., and Van der Lee J.J. 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi, part 7:

Plant analysis procedures. Wageningen Agricultural University Press, Wageningen.
53- Walkley A., and Black I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37(1): 29-38.
54- Yang J., Kloepper J.W., and Ryu C.M. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science 14(1): 1-4.
55- Zand I., Baghestani M., Shimi P., and Faghih A. 2003. An Analysis on the Management of Herbicides in Iran. Tehran University Press. (In Persian)

Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 4, Sep.-Dec. 2021, p. 583-597

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، مهر – آبان ۱۴۰۰، ص. ۵۹۷-۵۸۳

Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Filter Cake on Growth and Nutrient Concentration in Spinach Plant in Interaction with Herbicide

K. Asadzadeh[1]- H. Nadian[2]- A. Siahpoosh[3]- V. Keshavarz-Tohid[*4]
Received: 24-07-2021
Accepted: 06-09-2021

Background and Objectives: In recent years, the production of healthy foods through environmentally friendly methods has received much attention. Spinach is a vegetable plant rich in minerals and vitamins which is used in green and cooked forms. Thus, healthy production of this plant with the greatest quantitative and qualitative yield is of particular importance. Weeds as unwanted plants in spinach fields can damage this plant significantly. Nevertheless, spinach is severely sensitive to different herbicides. The goal of this study was to investigate the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), filter cake and metribuzin herbicide on growth and mineral nutrition of spinach plant. In this study, the growth and nutritional parameters of spinach interact with PGPR, filter cake and metribuzin herbicide was also aimed.

Materials and Methods: The spinach seeds (*Spinacia oleracea* L. Varamin cultivar) were sown in pots containing 40% field soil and 60% sand (10 seeds in each pots). To investigate the impact of PGPR isolates and filter cake on concentration of macronutrients (K, Ca, Mg, and P), micronutrients (Cu, Zn, and Fe) and leaves dry weight, *Pseudomonas protogenes* CHA0 (CHA0) as a reference strain, *P. alloputida* RUM14 (RUM14) which was collected from Iranian field soil and 3% by weight of fresh filter cake (F3%) were used. Spinach seedlings were inoculated for 14 days with 50 mL of bacteria strains suspension with optical density one (OD_{600}=1). 3% by weight of filter cake were mixed to soil of pots before sowing the seeds. Metribuzin herbicide at three levels (0 (H0), 50 (H1) and 100 (H2) grams per hectare) were used. The effects of PGPR, filter cake and metribuzin herbicides and their interactions were also studied (CHA0 + F0 + H1, RUM14 + F0+ H1, CHA0 + F0 + H2, RUM14 + F0 + H2, B0 + F3% + H0, B0 + F3% + H1, B0 + F3% + H2, CHA0 + F3% + H1, RUM14 + F3% + H1, CHA0 + F3% + H2, RUM14 + F3% + H2). The experiment had a randomized complete block design with three replications. The treatments (3 metribuzin herbicide × 2 filter cake × 3 PGPR) were arranged in factorial combination. The statistical analysis was performed using Duncan’s multiple range test at 5% probability level.

Results: Statistical analysis revealed that the application of PGPR (CHA0 and RUB14), filter cake, and their interaction increased tissue plant concentration of macronutrients, micronutrient and leaf dry weight of spinach plant. Statistically, the highest concentration of P, K, Ca, and Mg macronutrients (5583.30, 83000.00, 10886.70, 10766.60 mg kg^{-1} dry matter, respectively), Cu, Zn, and Fe micronutrients (22.73, 73.00, and 221.36 mg kg^{-1} dry matter, respectively) and dry weight of leaves (8.76 g) was observed in treatment of combination of PGPR and filter cake. The application of Metribuzin herbicide led to decline the concentration of macronutrients, micronutrient, and leaf dry weight of spinach plant. The decline increased with increasing herbicide concentration. The lowest concentration of P, K, Ca, and Mg macronutrients (3233.30, 48867.00, 6403.30, and 6283.30 mg kg^{-1} leaf dry weight, respectively), Cu, Zn, and Fe micronutrient (4.40, 19.50, and 132.66 mg kg^{-1}, respectively), and leaf dry weight (2.83 g) was observed in B0+F0+H2 treatment (using just herbicide 100 g ha^{-1}). However, the detrimental effect of herbicide on leaf dry weight and mineral nutrition of spinach plant were alleviated using the PGPR (CHA0 and RUB14) and filter cake (F3%) either alone or together (RUM14+F3%, CHA0+F3%). Statistically, the greatest alleviation of the detrimental effect of herbicide was observed in the treatment of RUM14+F3%.

1 and 2- Graduated of Master of Science and Professor, Department of Soil Science, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, respectively.
3- Assistant Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
4- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan
(*- Corresponding Author Email: keshavarz@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/JSW.2021.71455.1069

Conclusion: The results of this research showed that inoculation of spinach with *Pseudomonas* PGPR *(P. protogenes* CHA0, *P. alloputida* RUM14) with and without filter cake not only improved the growth and mineral nutrition of spinach plant, but also alleviated the detrimental effect of herbicide in the plant. In general, the proper function of PGPR and filter cake in spinach plant growth is due to 1- Supplying more nutrients to the spinach plant due to filter cake rich in nutrients 2- The ability of Pseudomonas bacteria to induce resistance of the plants to stress and supply of some nutrients such as iron due to its ability to produce siderophore 3- Supply of food by filter cake for further growth of PGPR and the possibility of increasing the population of these bacteria. 4- Filter cake rich in organic matter can improve the physical and biological properties of the soil and can provide the better conditions for plant growth and nutrition. The results of this research showed that *P. alloputida* RUM14 and filter cake can be used as biological and organic fertilizers.

Keywords: Macronutrient elements, Metribuzin, Micronutrient elements, Pseudomonas